

JURNAL KESEHATAN

KELAINAN FUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus, L.) AKIBAT SUPLEMENTASI TAWAS DALAM PAKAN

Ratih Haribi Sri Darmawati Tri Hartiti

ABSTRACT

Alum is used to improve the quality of food containing toxic heavy metal ions which can interfere with aluminum enzymatic system, and tissue damage. Liver and kidney are the most used network is affected, because it is a detoxification organ. Liver and kidney damage can be detected by an enzyme concentration of SGOT, SGPT, Billirubin, Protein, Ureum and Creatinin in the blood

This study aims to find out the effects of alum in a feed supplement for liver and kidney damage in a clinic conducted from May to October 2007, at the Laboratory of the University Clinic Patology Muhammadiyah Semarang. Sample studies of white rats (Rattus norvegicus, L.), aged 2 months with weight average of 200 grams. 0% dose treatment (without supplementation), 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1% and 0% (without supplementation), and subsequent treatment with a dose of 2%, 3%, 4%, 5% and 6% alum, who every day put into the stomach of rats 10 ml. Clinical laboratory tests performed at the time before treatment (control), 4 weeks, 6 weeks and 8 weeks of exposure time. Examination AST and ALT with Ultra Violet Test methods, Total Billirubin with modifications Groff Jendrasik method, total protein Colorimetri method, U Berthelot method, Creatinin Jaffe method.

Clinical chemistry tests showed that supplementation influence of alum on the concentration of enzymes and other factors in the blood of mice associated with damage to liver and kidney tissue. Level of organ damage significans with alum in a feed supplement. The higher the concentration of alum disuplementasikan and the longer exposure time resulted in damage to the liver and kidneys getting worse.

ABSTRAK

Tawas yang digunakan untuk peningkatan mutu makanan mengandung ion logam berat toksik yaitu aluminium yang dapat menggangu system enzimatik, dan merusak jaringan. Hati dan ginjal adalah jaringan yang paling dulu terkena dampak tersebut, karena merupakan organ detoksifikasi. Kerusakan hati dan ginjal dapat dideteksi dengan pemeriksaan konsentrasi enzim SGOT, SGPT, Billirubin, Protein, Ureum dan Creatinin dalam darah.

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek suplementasi tawas dalam pakan terhadap kerusakan hati dan ginjal secara klinik yang dilakukan mulai Mei sampai dengan Oktober 2007, di Laboratorium Patology Klinik Universitas Muhammadiyah Semarang. Sample penelitian berupa tikus putih (*Rattus norvegicus, L.*), umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram. Dosis perlakuan 0% (tanpa suplementasi), 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1% dan 0% (tanpa suplementasi), dan perlakuan selanjutnya dengan dosis 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% tawas, yang setiap harinya dimasukkan ke dalam lambung tikus sebanyak 10 ml. Pemeriksaan laboratorium klinik dilakukan pada waktu sebelum perlakuan (control), 4 minggu, 6 minggu dan 8 minggu waktu paparan. Pemeriksaan SGOT dan SGPT dengan metoda Ultra Violet Test, Total Billirubin dengan metoda Groff modifikasi Jendrasik, total Protein dengan metoda Colorimetri, Ureum dengan metoda Berthelot, Creatinin dengan metoda Jaffe.

Hasil pemeriksaan kimia klinik menunjukkan bahwa ada pengaruh suplementasi tawas terhadap konsentrasi enzim dan factor lain dalam darah tikus yang berhubungan dengan kerusakan jaringan hati dan ginjal. Tingkat kerusakan organ tersebut significans dengan suplementasi tawas dalam pakan. Semakin tinggi konsentrasi tawas yang disuplementasikan dan semakin lama waktu paparan mengakibatkan kerusakan hati dan ginjal yang semakin parah

PENGANTAR

Tawas banyak digunakan untuk memper baiki mutu makanan, seperti pada pengolahan lidah buaya sebelum diolah menjadi makanan, kulitnya dikupas, diremas dengan garam dan direndam dalam air yang dicampur tawas agar bau dan lendirnya hilang

Ikan sebelum diasap direndam dalam larutan tawas 10% selama 1jam, teksturnya kenyal, putih, rasa pahit dan amisnya ber kurang (Nurrahman dan Isworo JT, 2002). Daging ikan yang direndam pada larutan tawas 4% - 12% selama 30 menit sampai 2 jam, setiap 10 gram daging ikan menyerap alumini um 0,266 – 0,413 ppm (Haribi, R. dan Yusrin, 2005).

Tawas mangandung Aluminium, yang dalam bentuk ion sangat toksik dan dapat menyebabkan kerusakan organ detoksifikasi yaitu hati dan ginjal Ion logam dalam jaringan berikatan dengan protein pengikat logam (metalotionein), yaitu pada gugus sulfidril dari protein tersebut.(Cheung, RCK, et all, 2001).

Kerusakan hati ditandai dengan kenaikan konsentrasi enzim Glutamat Oksaloasetat Transaminase Serum (SGOT) dan Glutamat Piruvat Transaminase Serum (SGPT) serta hiperbillirubinemia (Sacher, R.A. and R.A. Mc. Pherson, 2004).

Ion logam berat menyebabkan nekrosis sel – sel epitel tubulus ginjal, permeabilitas mem bran glomerulus meningkat, sehingga protein dan zat-zat yang terlarut dalam plasma mudah melewatinya. Nekrosis tubuler ini ditandai de ngan hilangnya sejumlah besar protein plas ma, dan sebaliknya protein urine justru me ningkat. Ureum dan kreatinin yang seharusnya diekskresi lewat urine, menjadi meningkat konsentrasinya di dalam darah (Lehninger AL, 1994; Guyton and Hall, 1997).

Dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui efek ion aluminium sebagai komponen tawas, terhadap kerusakan organ dan fungsi dari hati dan ginjal tikus (Ratus norvegasus, L.) apabila pakannya di suplementasi dengan tawas dengan berbagai dosis, dan diamati dalam jangka waktu paparan yang bervariasi. Dari penekanan ini, akan diketahui dosis yang berbahaya bagi kesehatan dari pemakaian tawas dalam makanan dan dosis yang aman jika digunakan untuk perbaikan mutu makanan

CARA PENELITIAN

Sebelum dilaksanakan penelitian, tikus percobaan diaklimatisasi selama 1 minggu, yang tujuannya untuk memberi waktu pada hewan uji agar beradaptasi dengan lingkungan nya yang baru (di Laboratorium). Disamping itu, juga untuk memeriksa apakah ada hewan uji yang sakit. Apabila selama aklimatisasi terjadi kematian hewan uji, maka waktu aklimatisasi diulang lagi sampai tidak terjadi kematian hewan uji. Selama aklimatisasi hewan uji diberi pakan pelet (Parr G Pellet) tanpa tawas. Setelah

aklimatisasi dianggap selesai dan tidak ada hewan uji yang sakit / mati, maka pemberian pakan (pelet) dimulai dengan pencampuran tawas yang telah ditentukan sampai batas waktu yang telah ditentukan pula (Hutahaian, S., 1998).

Pada awal penelitian, suplementasi ta was dilakukan dengan dosis 0%; 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,5% dan 1%, dengan waktu paparan 0 minggu (sebelum tikus diberi perlakuan), 4 minggu, 6 minggu dan 8 ming gu. Suplementasi tawas dilakukan dengan mencekok (memasukkan larutan tawas dengan sonde) larutan tawas setiap hari, masing-masing 10 ml. Hasil pemeriksaan laboratorium yang meliputi pemeriksaan kelainan fungsi hati, kelainan fungsi ginjal hemapoetik dari tikus dan system percobaan tidak menunjukkan hasil yang bermakna.

Pada tubuh, sangat mungkin terjadi penumpukan ion aluminum dari tawas akibat dari suplay lewat makanan yang tidak terkendali, maka dalam percobaan ini dosis perlakuan (suplementasi tawas pada pakan) dinaikkan menjadi satu level di atas dosis perlakuan tertinggi, yaitu mulai dari 2%; 3%; 4%; 5% dan 6% dan 0% (tanpa suplementasi tawas).

Pada waktu sebelum diberi perlakuan (suplementasi tawas pada pakan) semua tikus diperiksa SGOT, SGPT, Billirubin Total, Protein Total, Ureum, dan Creatinin. Sebagai kontrol terjadinya perubahan parameter terukur setelah tikus diberi perlakuan. Pada saat akan dilakukan pemeriksaan, tikus dibius dengan

khloroform, kemudian diambil darahnya secara aseptik dari konjuctiva dengan spuit injeksi dan ditempatkan pada botol steril sebagai sampel penelitian. Selanjutnya darah ditambah dengan EDTA untuk menghambat pembekuan, disentrifuge dan yang digunakan untuk pemeriksaan adalah serumnya.

Pemeriksaan meliputi pemeriksaan fungsi hati (SGOT, SGPT, dan Bilirubin); dan pemeriksaan fungsi ginjal (total protein, ureum dan Creatinin). Analisis data dilakukan dengan uji Anova dan Uji Kruskal – Wallis. Uji kenormalan data digunakan uji Kolmogo rov – Smirnov.

Secara rinci, urutan penelitian sebagai berikut:

A. PEMERIKSAAN FUNGSI HATI A.1. PEMERIKSAAN SGOT

Metoda yang digunakan adalah Ultra Violet Test, yang prinsipnya adalah :

Pemeriksaan SGOT adalah sebagai berikut : diambil 20 µl sampel (serum darah tikus) dalam tabung reaksi, ditambah dengan 1000 µl reagen SGOT, dicampur dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 menit. Baca absorben pada fotometer dengan Panjang Gelombang 340, Faktor 1745, Program K 20.

A.2. PEMERIKSAAN SGPT

Metoda pemeriksaan SGPT yang di gunakan adalah Ultra Violet Test, yang prinsipnya adalah:

Prosedur pemeriksaan adalah sebagai berikut : isikan tabung reaksi dengan sampel (serum darah tikus) sebanyak 20 µl dan ditambah reagen SGPT sebanyak 1000 µl. Campur dan inkubasikan pada suhu 37° C selama 1 menit. Baca absorben setelah tepat 1 menit, 2 menit, dan 3 menit pada Panjang Gelombang 340, Faktor 1745 dan pada Program K 20.

A.3. PEMERIKSAAN TOTAL BILLIRU BIN

Pemeriksaan Total Bilirubin mengguna metoda Groff kan yang merupakan modifikasi dari metoda Jendrasik, yang prinsipnya adalah bahwa Bilirubin bereaksi dengan Diazohzed Sulphananilic Acid membentuk zat warna Azo Merah.

Caranya sebagai berikut : disiapkan 2 tabung reaksi, satu tabung untuk larutan blanko, yaitu 1000 μl Reagen 1 dan 100 μl sampel (serum darah tikus). Sedang tabung yang lain untuk sampel, yaitu diisi 1000 μl reagen 1, 1 tetes reagen 2 dan 100 μl sampel (serum darah tikus). Dicampur dan

diinkubasi selama 10 – 30 menit pada suhu 25° C. Baca pada Photometer dengan Panjang Gelombang 546, Faktor 13 dan pada Program C/F.

B. PEMERIKSAAN FUNGSI GINJAL B.1. PEMERIKSAAN TOTAL PROTEIN

Pemeriksaan Total Protein dalam serum digunakan metoda Colorimetris (test warna) yang prinsipnya adalah bahwa ion Cu ⁺⁺ bereaksi dengan protein dalam larutan alkali membentuk suatu kompleks berwarna ungu. Prosedur pemeriksaan Total Protein Serum adalah : disiapkan 3 buah tabung reaksi. Tabung pertama diisi 1000 µl reagen warna untuk blanko. Tabung ke dua diisi dengan 20µl larutan standart dan 1000µl reagen warna untuk standart. Tabung ke tiga diisi dengan 20µl serum /plasma dan 1000 µl reagen warna untuk sampel.

Campur isi tabung ke dua dan isi tabung ke tiga, dan semua isi tabung diinkubasi pada suhu 25° C selama 10 menit , dibaca absorben sampel dan standart terhadap blanko reagen pada panjang gelombang 546, Faktor 19 dan pada Program C/St (Consentrasi perstandart).

B.2. PEMERIKSAAN KADAR UREUM DA LAM DARAH

Pemeriksaan Kadar Ureum dalam Darah menggunakan metoda Berthelot yaitu merupa kan metoda enzymatik

colorimetrik. Prinsip dasar dari metoda tersebut adalah bahwa ureum dihidrolisis dengan adanya air dan urease membentuk amonia dan CO₂. Prosedur pemeriksaan kadar ureum dalam darah adalah sebagai berikut : siapkan 3 buah tabung reaksi. Tabung pertama diisi dengan 1000 μl reagen sebagai blanko. Tabung ke dua sebagai standard, diisi 10 µl larutan standard dan 1000 ul reagen 1. tabung ke tiga sebagai sampel diisi 10 µl sampel dan 1000 µl dan reagen 1, dicampur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 menit.

Masing-masing tabung ditambah dengan 1000 µl reagen 2, dicampur dan diinkubasi pada suhu 37°C sampai 60 menit. Baca pada Photometer dengan Panjang Gelombang 546, Faktor plasma / serum 80 program C/St.

B.3. PEMERIKSAAN KADAR CREATI NIN DALAM DARAH

Pemeriksaan kadar Creatinin dalam Darah digunakan metoda Jaffe yang prinsip nya adalah bahwa creatinin dalam suasana alkali, membentuk suatu kompleks warna merah jingga denngan asam pikrat absorben dari kompleks warna ini proporsional dengan konsentrasi creatinin dalam sampel.

Prosedur pemeriksaan tersebut adalah sebagai berikut : siapkan 3 buah tabung reaksi. Tabung pertama diisi dengan aquadest 500 µl + 500 µl TCA. Tabung ke

dua diisi dengan larutan standard 500 ul + 500 µl TCA. Tabung ke tiga diisi dengan 500 µl sampel + 500 µl TCA. Masingmasing isi tabung dicampur, dicentrifuge pada kecepatan tinggi selama 5 - 10 menit. Diambil 500 µl supernatant dari masing-masing tabung dan diletakkan pada 3 tabung yang lain. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan 500 µl reagen campuran 1 dan 2, dicampur dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Diukur absorben sampel dan standard terhadap blanko reagen pada Panjang Gelombang 546, Faktor 2,0 dan pada Program Concentrasi per standard.

HASIL PENELITIAN & **PEMBAHASAN** A. HASIL PENELITIAN

Hasil amalisis menggunakan uji Anova dan Uji Kruskal - Wallis (dapat dilihat dalam lampiran). Uji kenormalan data digunakan uji Kolmogorov Smirnov, pemeriksaan laborato rium darah tikus (Rattus norvegicus, L.) yang berupa pemeriksaan SGOT, SGPT, Total Billirubin. Protein. Total Ureum, Creatinin. sebelum dan sesudah suplementasi tawas 0%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5% dan 1% ke dalam pakan selama paparan 4 minggu, 6 minggu dan 8 minggu, adalah sebagai berikut:

Tabel 1: Hasil Uji Pengaruh Suplementasi Tawas 0%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5% dan 1% dalam Pakan, terhadap variable yang diuji

No	Variable	Perlakuan 0 dg 4 mg		Perlakuan 0 dg 4 mg		Perlakuan 0 dg 4 mg	
		P - value	Kesimpulan	P - value	Kesimpulan	P - value	Kesimpulan
1.	SGOT	0,864 > 0,05	Non signi ficans	0,828 > 0,05	Non signi ficans	0,725 > 0,05	Non significans
2.	SGPT	0,599 > 0,05	Non signi ficans	0,001 < 0,05	Significans	0,440 > 0,05	Non significans
3.	Total Billirubin	0,768 > 0,05	Non signi ficans	0,870 > 0,05	Non signi ficans	0,701 > 0,05	Non significans
4.	Total Protein	0,985 > 0,05	Non signi ficans	0,519 > 0,05	Non signi ficans	0,967 > 0,05	Non significans
5.	Ureum	0,334 > 0,05	Non signi ficans	0,598 > 0,05	Non signi ficans	0,799 > 0,05	Non significans
6.	Creatinin	0,889 > 0,05	Non signi ficans	0,864 > 0,05	Non signi ficans	0,795 > 0,05	Non significans

Oleh karena semua hasil pemeriksaan variable yang menunjukkan tidak adanya pengaruh suplementasi tawas pada pakan konsentrasi 0%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5% selama paparan 4 minggu, 6 dan 1% untuk minggu dan 8 minggu,

mengantisipasi adanya penumpukan tawas dalam tubuh, maka konsentrasi perlakuan dinaikkan 1 level di atasnya, yaitu konsentrasi tawas yang disuplementasikan ke dalam pakan menjadi 0%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6%.

Hasil analisisnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2: Hasil Uji Pengaruh Suplementasi Tawas 0%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% dalam Pakan, terhadap variable yang diuji

N o	Variable	Variable Perlakuan 0 dg 4 mg		Perlakuan 0 dg 4 mg		Perlakuan 0 dg 4 mg	
		P – value	Kesimpulan	P – value	Kesimpulan	P - value	Kesimpulan
1.	SGOT	0,017 < 0,05	Significans	0,007 < 0,05	Significans	0,006 < 0,05	Significans
2.	SGPT	0,038	Significans	0,000	Significans	0,000 < 0,05	Significans
3.	Total Billirubin	0,259	Significans	0,096 < 0,05	Significans	0,001 < 0,05	Significans
4.	Total Protein	0,004	Significans	0,005 < 0,05	Significans	0,001 < 0,05	Significans
5.	Ureum	0,003	Significans	0,001 < 0,05	Significans	0,000 < 0,05	Significans
6.	Creatinin	0,416 > 0,05	Non signi ficans	0,003 < 0,05	Significans	0,001 < 0,05	Significans

B. PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan laboratorium analisis statistic. perlakuan dan suplementasi tawas pada pakan tikus (Rattus norvegicus, L.) dengan dosis 1%; 0,5%; 0,2%; 0,1%; 0,05%, dan 0% (tanpa suplementasi) selama waktu paparan 4 minggu, 6 minggu dan 8 minggu, tidak menunjukkan hasil yang bermakna (non significans). Pada dosis suplementasi tawas pada pakan 6%, 5%, 4%, 3%, 2% dan 0% (tanpa suplementasi) sebagai pembanding, dengan waktu paparan yang sama, yaitu 4 minggu, 6 minggu dan 8 minggu, hasilnya menunjukkan hasil yang significans.

Pemeriksaan laboratorium pathologi klinik (SGOT, SGPT, Total Billirubin, Total Protein, Ureum, Creatinin) sebelum tikus-tikus tersebut diberi perlakuan dipakai sebagai kontrol. Hal ini dilakukan, karena tidak adanya standart yang baku nilai nor mal hasil pemeriksaan pathologi kli nik pada tikus, yang tentunya berbeda dengan yang berlalku pada manusia.

Pada suplementasi tawas pada pakan dengan waktu paparan 4 minggu, konsentrasi suplementasi tawas 0%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6%, belum menunjukkan adanya penga ruh terhadap kenaikan konsentrasi enzim SGOT, konsentrasi total Billirubin, dan konsentrasi Creatinin dalam darah. Akan tetapi suplementasi tawas dalam pakan tersebut ada pengaruhnya pada konsentrasi enzim SGPT, konsentrasi total protein dan ureum dalam arah.

Konsentrasi enzim SGPT yang naik, diduga ada gejala kerusakan dari jaringan hati, karena konsentrasi SGPT yang cen derung naik merupakan tanda yang khas adanya kerusakan membrane basalis jaringan hati, sehingga enzim SGPT yang seharusnya berada pada jaringan hati merembes ke dalam serum, akibatnya konsentrasi enzim tersebut dalam darah naik. Biasanya awal kerusakan hati ini belum disertai dengan kenaikan konsentrasi SGOT dan total Billirubin.

Adanya kenaikan konsentrasi total protein dan ureum, mengarah kepada adanya awal kerusakan jaringan ginjal, sedangkan Creatinin dalam hal ini tidak, sebab konsentrasi Creatinin menurut Sacher, R.A. dan kawan – kawan (2000), baru akan naik jika fungsi ginjal benar – benar menurun.

Dalam waktu paparan 6 minggu supple mentasi tawas pada pakan, terlihat adanya pengaruh terhadap kenaikan konsentrasi SGOT, SGPT, Total Protein, Ureum dan Creatinin, sedangkan Total Billirubin tidak.

Pada waktu paparan 8 minggu suplementasi tawas dalam pakan, hasil pemeriksaan laboatorium pathologi klinik dan histopathologi, menunjukkan akibat yang lebih berat terhadap kerusakan jaringan hati dan ginjal.

Adanya kenaikan konsentrasi Creati nin, menunjukkan bahwa terjadi penurunan fungsi dari ginjal, yang berarti mulai terjadi kerusakan ginjal yang serius. Dengan demikian, semakin lama waktu paparan, mengakibatkan semakin

parahnya kerusakan yang terjadi pada jaringan hati dan ginjal tikus.

untuk Penggunaan tawas meningkatkan mutu makanan, berdasarkan uji organoleptik, tidak mungkin dalam sebesar konsen trasi yang disuplementasikan tikus (dalam pada percobaan ini), karena jika konsentrasi tawas yang dicampurkan dalam makanan terlalu banyak akan menimbulkan rasa pahit.

Jika makanan harus direndam pada larutan tawas mulai dari konsentrasi 1% sampai dengan 12%, seperti yang dilakukan Haribi, R dan Yusrin (2005), konsentrasi aluminium yang terakumulasi dalam setiap 10 gram daging ikan hanya 0, 2 - 0,4 ppm. Sedangkan pada suplementasi tawas ini sengaja dimasukkan larutan tawas dengan sonde langsung ke lambung tikus dengan konsentrasi yang tidak biasa dicampurkan dalam makanan. Walaupun konsentrasi larutan tawas sebagai perendam makanan tidak (ikan) mencapai 10%. maka semuanya diakumulasi oleh makanan tersebut, karena sebagian besar tawas berikatan dengan koloid pada larutan perendam.

Aluminium dalam lingkungan yang asam bersifat ion, sedang dalam kondisi pH netral (6-7) bersifat sebagai logam, bahkan cenderung berikatan dengan bahan organic membentuk koloid (Cheung, RCK, et all, 2001). Dalam tubuh jasad hidup terjadi keseimbangan asam dan basa, sehingga pH tubuh adalah netral.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diatas, dapat sebagai berikut, disimpulkan bahwa Alumini dalam tawas vang disuplementasikan pada pakan tikus, dengan konsentrasi di atas 1% dengan paparan 4 minggu sudah waktu menunjukkan adanya perusakan jaringan hati dan ginjal

Kerusakan jaringan hati dan ginjal akibat suplementasi tawas pada pakan men jadi lebih parah setelah waktu paparan lebih dari 8 minggu. Semakin lama waktu paparan dan semakin tinggi dosis suplementasi tawas dalam pakan, akan semakin parah kerusakan hati dan ginjal tikus.

Konsentrasi tawas yang disuplemen tasikan pada pakan, semakin tinggi mem

Secara logika, jika di dalam tubuh terdapat alumium, akan terjadi ikatan aluminium dengan bahan organic tubuh membentuk koloid, selanjutnya koloid dikeluarkan dari tubuh lewat faeses. Dengan demikian tidak akan terjadi akumulasi alu minium yang tinggi pada organ dalam tubuh yang memberikan efek tingkat kerusakan jaringan hati dan ginjal yang semakin berat juga.

B. SARAN

Perlu dilakukan analisis (AAS / X Ray) terhadap aluminium pada organ dan pada faeses dan urine, untuk melacak

akumulasi aluminium, terjadinya atau logam berat toksik yang lain pada organ, faeses dan urine.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheung, R. C.K.; Chan, M. H. M.; Ho, C.S.; Lam, C, W. K. and Lau, E. L. K., 2001. poisoning clinical Heavy metal significance and laboratory investigation. Asia pasific Analyte Notes. BD Indispensable to Human Healt. Vol 7, No. 1 th 2001. Hong Kong.
- Darmawati, S. dan R. Haribi, 2005. Analisis protein pilli dari Salmonella typhi isolat RS Karvadi Semarang dengan elektroforesis SDS - PAGE Jurnal Litbang UNIMUS ISSN 1829 - 880X Vol. 2 No. 3 September 2005. Semarang.
- 2005. Haribi, R. dan Yusrin, Konsentrasi Aluminium pada Ikan Asap yang Direndam dalam Larutan Tawas. Dasar. Dirjen Dik Ti Penelitian Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E. and Moss P.A.H. (2005). Essensial Haematology 4 Ed, Blackwell Science, Ltd. Oxford.
- Hutahaean, S., 1998, Pengaruh Fenitoin terhadap Kalsifikasi Skeleton, Pengapuran Arteri dan Kecacatan Fetus Mencit (Mus musculus, L). Tesis Program Sudi Biologi. Program Pasca Sarjana Gadjah Mada Universitas Yogyakarta.
- Biochemica Gesellschaft fur Human Diagnostica mbH, 1999. Max - Planck - Ring 21 - D - 65205 Weisbaden -Germany.
- Nurrahman dan J.T. Isworo, 2002. Pengaruh Lama Perendaman dan Konsentrasi Tawas terhadap Sifat Fisik, Kimia dan

Organoleptik Ikan Tongkol Asap. Dalam Proseding Seminar Teknologi Pangan, PATPI, Malang.

Sacher, R.A. and R.A. Mc. Pherson, 2004. Clinical Interpretation of Laboratory Test, Ed. F.A. Davis Comp. Philadelphia, Pensylvania, U.S.A.

Sumirat, J., 2003. Toksikologi Lingkungan Gadjah Mada University Press, Yogyakarta